Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof.Dr.med., Dr.med.dent. E. HARNDT

DIE ALDOLASE-AKTIVITÄT IM SPEICHEL KARIESFREIER UND KARIESBEFALLENER PERSONEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

O L A F T R Ü M P E R

aus Berlin

1961

Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof.Dr.med., Dr.med.dent. E. HARNDT

DIE ALDOLASE-AKTIVITÄT IM SPEICHEL KARIESFREIER UND KARIESBEFALLENER PERSONEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

O L A F T R Ü M P E R

aus Berlin

Dekan : Professor Dr.med. Wilhelm Maßhoff

Referent : Professor Dr.med.Dr.med.dent. Ewald Harndt

Korreferent : Professor Dr.med. Hans-Joachim Dulce

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am : 8. FEB. 1966

DISPOSITION

1. E I N L E I T U N G
2. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T
3. P R O B L E M S T E L L U N G
4. U N T E R S U C H U N G S M A T E R I A L
   a) Probandeneinteilung
   b) Probandenherkunft
   c) Entnahme des Untersuchungsmaterials
5. U N T E R S U C H U N G S M E T H O D E N
   a) Kritische Betrachtung einer bisher geübten Methode
   b) Eigene Methode: Begründung
      Prinzip
      Durchführung
      Prüfung
      Bezugssystem für die Berechnung
6. V O R U N T E R S U C H U N G E N
   Fragestellungen
   Durchführung
   Ergebnisse
7. H A U P T U N T E R S U C H U N G E N
   Fragestellungen
   Durchführung
   Ergebnisse
8. D I S K U S S I O N
9. Z U S A M M E N F A S S U N G
10. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

EINLEITUNG

Die oft erheblich auseinandergehenden Meinungen über die Kariesätiologie lassen lediglich in einem Punkte Übereinstimmung erkennen: der sich an den Zähnen abspielende Zerstörungsprozeß kann nicht auf eine einzige Ursache zurückgeführt werden, sondern ist ein multikausales Geschehen! Es genügen also nicht ein bestimmter Bakterienstamm, eine bestimmte Säure, ein bestimmtes Enzym oder auch nur eine bestimmte Veranlagung, um einen Zahn kariös werden zu lassen, sondern es müssen dispositionelle und kausale Faktoren in einer noch unbekannten Konstellation zusammentreffen, um eine kariöse Läsion an einem Zahn entstehen zu lassen. Um diesen komplexen Vorgang eines Tages in seiner Gesamtheit richtig erfassen und aus dieser Erkenntnis Schlüsse für die Behandlung und Prophylaxe ziehen zu können, werden seit langem, ausgehend von den unterschiedlichsten Fragestellungen, Einzelergebnisse zusammengetragen. Durch systematische Forschungen und klinische Erfahrungen ist erwiesen, daß die Form, die Struktur und die Stellung der Zähne im Zahnbogen sicher eine ebenso große Rolle spielen wie das gesamte Mundhöhlenmilieu, das unter anderem durch die Art der Ernährung, die Mundpflege oder die bakterielle Besiedelung beeinflußbar ist. Allgemeine Stoffwechselsituation, erbliche Belastungen, aber audh Beziehungen zwischen der Karies und spezifischen

Erkrankungen des gesamten Organismus werden diskutiert.

Entsprechend den jeweiligen Forschungsrichtungen, Beobachtungen und Versuchsergebnissen der verschiedenen Autoren rücken bestimmte Theoreme in den Vordergrund der Diskussion.

Da die Zähne seit ihrem Durchbruch in die Mundhöhle ununterbrochen mit dem Speichel in Berührung stehen, ist der Gedanke naheliegend, auch den Speichel in den Kreis der Untersuchungen einzubeziehen. Man weiß heute, daß zur Kariesentstehung neben anderen immer zwei Bedingungen erfüllt sein müssen: das gleichzeitige Vorhandensein von Bakterien und Kohlehydraten. Beide sind im Speichel eines jeden Menschen anzutreffen und stehen zueinander insofern in Beziehung, als die Kohlehydrate mit Hilfe der von Bakterien produzierten Enzyme in ihre Abbauprodukte zerlegt werden, von denen einige in direktem Zusammenhang mit der Schmelzzerstörung stehen.

Es wäre daher vorstellbar, daß das Fermentbild des Speichels bei kariesbefallenen Menschen anders aussieht als bei kariesfreien Personen. Nur müßten sich dann, vorausgesetzt, daß meßbare Unterschiede erkannt werden, Gesetzmäßigkeiten in den Meßergebnissen bei Kariesfreien und Kariesbefallenen ergeben.

Weiterhin müßte bei Vorhandensein solcher stets wiederkehrenden Gesetzmäßigkeiten allein schon aus den Meßergebnissen auf den klinischen Gebißzustand zu schließen sein.

In der vorliegenden Arbeit soll zur Klärung dieser Frage untersucht werden, ob im Speichel kariesfreier und kariesbefallener Probanden meßbare Unterschiede der Aldolase-Aktivität vorhanden sind, die sich eventuell als Karies-Test-Methode verwerten ließen.

LITERATURÜBERSICHT

Die Vorteile, die sich aus der Feststellung gesetzmäßiger Unterschiede bei kariesaktiven und kariesresistenten Personen für die Kariesprophylaxe und -therapie ergeben würden, spiegeln sich in den mannigfaltigen Versuchen wider, sogenannte Karies-Test-Methoden zu finden. Bekannt geworden sind zum Beispiel der SNYDER-Test und der Laktobazillen-Test, keiner hat jedoch bis heute allgemeine Anerkennung gefunden.

In jüngerer Zeit haben sich BRAMSTEDT, KRÖNCKE, NAUJOKS et al. ebenfalls mit diesem Problem befaßt. 1952 veröffentlichten (1) sie Versuchsergebnisse, aus denen signifikante Unterschiede in der Speichelatmung bei kariesaktiven (KA) und kariesresistenten (KR) Personen hervorgingen. Sie empfahlen diese Methode der Messung des Sauerstoffverbrauches des Speichels bei KA. und KR. mit dem WARBURG-Gerät als klinischen Karies-Test. Verglichen werden sollten die O_2-Verbrauchswerte von je 1 ml Speichel in einer Stunde.

Auch HARTLES und MCDONALD untersuchten 1950 (2) den Sauerstoffverbrauch des Speichels bei KA. und KR. mit dem WARBURG-Gerät. Sie konnten jedoch bei ihren Messungen k e i n e Unterschiede zwischen den beiden Probandengruppen feststellen! Desgleichen bestimmten

SZABO, HATTYASY und TOTH (3) den O_2-Verbrauch im Speichel und fanden ebenfalls k e i n e unterschiedlichen Werte. KOTHE und SCHÜTZMANNSKY (4) wiederum bestätigten die Ergebnisse von BRAMSTEDT und Mitarbeitern.

Angeregt durch diese widersprüchlichen Angaben in der Literatur untersuchte WILLIAM (5) 1964 an insgesamt 81 Probanden den O_2-Verbrauch des menschlichen Speichels und seine Beziehung zur Karies. Für seine Untersuchungen benutzte er ebenfalls den WARBURG-Apparat. Er kommt aufgrund seiner Ergebnisse zu dem Schluß, daß der O_2-Verbrauch des Speichels k e i n e Korrelation zum Kariszustand der Untersuchungsperson erkennen läßt und lehnt somit das Verfahren der O_2-Verbrauchsmessung des Speichels als Karies-Testmethode ab. Seine Untersuchungen ergaben eine O_2-Aufnahme des Speichels proportional der Zeit, wobei die Höhe des gemessenen Wertes vom pH des Untersuchungsansatzes abhängig ist. Ferner zeigte sich, daß die Homogenitätsverhältnisse des Speichels die Messung beeinflussen können und daß die O_2-Aufnahme nicht nur tageszeitlichen Schwankungen unterliegt, sondern auch bei denselben Probanden an verschiedenen Tagen verschieden sein kann.

Der O_2-Verbrauch ist mit großer Wahrscheinlichkeit

Ausdruck für die Stoffwechselleistungen der lebenden Zellen des Speichels, also in erster Linie der Bakterien, der Hefen und der Leukozyten. Zu einem normal ablaufenden Stoffwechsel gehört ein vollausgebildetes Fermentsystem. Der O_2-Umsatz erfolgt in der Atmungskette, deren Substrate aus dem Zitronensäurezyklus hervorgehen. Für den Kohlehydratabbau erfolgt die Spaltung bis zur Brenztraubensäure hauptsächlich über die Glykolyse. Eine zentrale Stellung in diesem anaeroben Abbau nimmt die Fruktose-1-6-diphosphat-Aldolase ein. Sie katalysiert in umkehrbarer Reaktion die Spaltung von Fruktose-1-6-diphosphat in die beiden Trisephosphate D-3-Glycerinaldehydphosphat und Dihydroxyacetonphosphat.

HOERMANN,K.C. und ROBINSON,W.E. (6) befaßten sich 1957 mit der Bestimmung der Eigenschaften der Speichel-Aldolase. Als Quelle für die im Speichel vorhandene Aldolase geben sie Bakterien und Hefezellen an. Sie fanden ein pH-Optimum für die Speichel-Aldolase von 7,6 und eine optimale Temperatur von 38° und 45°: "The optimum reaction-temperature for supernatant saliva aldolase was approximately 45°C. However, 38°C was selected for our work, since the sensitiveness was essentially equal at the two temperatures".

Über den Mechanismus der Enzymentweichung aus der Zelle schreiben AEIBI und RICHTERICH (7): "Die Enzyme

entfalten ihre Wirkung primär im Zellinneren, hier werden sie synthetisiert, hier erfüllen sie ihre biokatalytischen Aufgaben und hier werden sie schließlich abgebaut. Die Enzyme sind zudem integrale Bestandteile der Zellstruktur. Schätzungen haben ergeben, daß mindestens 90% des gesamten Proteinbestandes der Zelle aus Enzymen bestehen. Diese liegen in der Zelle zum Teil in Lösung vor (cytoplasmatische oder C-Enzyme), zum Teil sind sie in bestimmten Zellstrukturen verankert (Mitochondrien, Mikrosomen, Zellkern). In enzymdiagnostischer Hinsicht ist es wichtig, die cytoplasmatischen C-Enzyme von den mitochondrialen M-Enzymen auseinanderzuhalten. Die M-Enzyme sind streng strukturgebunden und treten nur bei Zerstörung der Mitochondrien in den Extracellulärraum über. Die C-Enzyme, z.B. die A l d o l a s e, Lactat-dehydrogenase, C-glutamat-oxalat-Transaminase, sind gelöst und erscheinen bereits physiologischerweise in kleinsten Mengen im Plasma". Gesteigerte Enzymsynthese, Membrandefekte und Zellnekrose können nach diesen Autoren zu einer vermehrten Freisetzung intrazellulärer Enzyme in den extrazellulären Raum führen.

Auf Mundhöhlenverhältnisse übertragen, könnte man die zelligen Bestandteile des Speichels als intrazellulären Raum und die Flüssigkeit, in der sie schwimmen, als extrazellulären Raum betrachten.

In den schwedischen VIPEHOLM-Untersuchungen wurde bei kariesresistenten Personen eine verzögerte sog. "oral sugar clearance" festgestellt, d.h., daß eine gleiche Menge Zucker bei einem KA. langsamer in der Mundhöhle abgebaut wird als bei einem KR.-Probanden. Diese Erkenntnisse dienten NAUJOKS, BRAMSTEDT, RANKE und KRÖNCKE als Ausgangsbasis für Untersuchungen über den Grund der verlangsamten Zuckerausscheidung bei kariesaktiven Personen (8). So schrieben sie 1960: "Die Abhängigkeit der Kariesfrequenz beim Menschen von der Eliminationsgeschwindigkeit der Zucker aus der Mundhöhle konnte durch die schwedischen VIPEHOLM-Untersuchungen nachgewiesen werden. Dabei blieb aber die Frage offen, ob das schnellere Verschwinden des Zuckers bei KR. auf mechanische (z.B.: erhöhter Speichelfluß) oder biochemische Faktoren (z.B.: unterschiedliche Aktivität bestimmter Enzyme des Kohlehydratabbaus im Speichel oder Mangel an Co-Faktoren) zurückzuführen ist". Von den Autoren in diesem Zusammenhang durchgeführte Untersuchungen ergaben, daß bei den KA. etwa nur 1/3 der bei den KR. abgebauten Glukose umgesetzt wurden. Es heißt dann weiter: "Im Verlauf dieser Versuche wurden Hinweise dafür gefunden, daß die Aldolase-Aktivität im Speichel KA. einen begrenzenden Faktor im Kohlehydratabbau im Speichel darstellt". Es wurden dann in 12 Einzelversuchen der Nüchtern-Speichel von KA. und KR. auf seine Aldolase-Aktivität untersucht und gefunden, daß die gemessene Aktivität bei KA.

etwa 1/3 der bei den KR. gemessenen Aktivitäten betrug. Für die KR. wurden 180,7 ± 17,8 BRUNS-Einheiten pro ml Speichel und für die KA. 56,6 ± 5,5 BRUNS-Einheiten pro ml Speichel gemessen. Ein um 2/3 verlangsamter Glukose-Abbau bei KA. gegenüber KR. fiel also zusammen mit einer um 2/3 verringerten Aldolase-Aktivität bei diesen. Die Autoren stützen darauf ihre Vermutung, daß es im Speichel der KA. aufgrund der verminderten Aldolase-Aktivität zu einem Anstau von Stoffwechselprodukten bzw. zu einer Hemmung des Glukoseabbaus kommt. Im weiteren Verlauf ihrer Ausführungen wird auf die Bedeutung dieser Erkenntnisse für die Kariesätiologie eingegangen: "Auf die Verhältnisse der Mundhöhle übertragen, würde das bedeuten, daß bei KA. infolge der verminderten Aldolase-Aktivität mit einer längeren Verweildauer der Glukose im Speichel zu rechnen ist. Dies hat wiederum zur Folge, daß bei KA. der höhere Zuckergehalt des Speichels zu einer intensiveren und längeren Berieselung der Plaques mit Substrat führt, die gegenüber dem Speichel anaerobe Verhältnisse aufweisen und bevorzugt Milchsäure bilden können. Diese können durch Gärung mehr Milchsäure bilden als die KR., wo aufgrund der höheren Aldolase-Aktivität praktisch kein Zucker, oder nur geringe Mengen für eine kurze Zeitdauer im Speichel zurückbleiben. Die verminderte Aldolase-Aktivität im Speichel KA. erweist sich somit als äußerst wichtiger Faktor der Kariesätiologie". 1961 (9) veröffentlichten NAUJOKS, BRAMSTEDT, RANKE und KRÖNCKE weitere Ergebnisse über die Beziehung zwischen

Aldolase-Aktivität des Speichels und der Karies-
Sie gehen wieder davon aus, daß die Eliminations-
geschwindigkeit des Zuckers aus der Mundhöhle bei
KA. signifikant verlangsamt ist. Zur Klärung der
Ursachen dafür untersuchten sie den Verlust an
wahrer Glukose, den Verlust an anthronpositiven
Substanzen, den Sauerstoffverbrauch und die
Aldolase-Aktivität des Speichels. Zur Untersu-
chung gelangte Ruhe-Nüchtern-Speichel, sofort
nach dem Erwachen von Probanden entnommen, die
aufgrund des klinischen Bildes, der Kariesanamnese
und der klinischen Beobachtung über einen Zeit-
raum von 1-2 Jahren als KR. und KA. bezeichnet
wurden. Es wurden bei allen Untersuchungen signi-
fikante Unterschiede zwischen den beiden Probanden-
gruppen gefunden, und zwar waren die Werte für den
Verlust an "wahrer Glukose" und an anthronpositiven
Substanzen, die O_2-Verbrauchswerte und die Aldolase-
Aktivität bei den KA. stets um 2/3 niedriger als
bei den KR.

In dieser Arbeit wird auch auf die schon oben erwähn-
ten Untersuchungen von HOERMANN und ROBINSON (6),
die sich mit der Bestimmung, der Kinetik und etwaigen
Hemmstoffen der Speichel-Aldolase befaßten, hinge-
wiesen. Es heißt darin, HOERMANN und ROBINSON hätten
individuelle Schwankungen bezüglich der Aldolase-
Aktivität festgestellt, und an anderer Stelle:

"Beziehungen zur Kariesanfälligkeit wurden weder untersucht noch diskutiert". Allerdings haben HOERMANN und ROBINSON bei der ursprünglichen Fragestellung ihrer Arbeit den Karieszustand nicht berücksichtigt, jedoch ergab sich als Nebenbefund bei den Untersuchungen folgendes: "The mean aldolase activity in the supernatant saliva of 36 male adults, ages 17-22 years, was 26,05±20,32 units per ml. Five of the group of 36 individuals assayed for aldolase activity were cariesfree. They exhibited no carious lesions or previous dental restoration. The mean aldolase activity in the supernatant saliva of these cariesfree individuals was 13,2 units per milliliter. Although this information is of no statistical value at present, it does serve, however, to raise a question as to the possible dental clinical significance of salivary aldolase activity as a diagnostic tool". Obwohl die Autoren aufgrund ihrer Ergebnisse noch keine bindenden Schlüsse ziehen wollen, sind doch die gemessenen Werte insofern interessant, als sie im Gegensatz zu den Ergebnissen von BRAMSTEDT und Mitarbeitern stehen. Die bei den fünf kariesfreien Personen aus dem Probandenkreis von HOERMANN und ROBINSON gemessenen Aldolase-Aktivitäten in 1 ml Speichel liegen mit 13,20 n i e d r i g e r als bei den nicht mehr kariesfreien Personen! Nach BRAMSTEDT et al. müßten jedoch die Werte für diese Probanden um ungefähr 2/3 h ö h e r liegen als die

Werte der anderen untersuchten Personen!

1962 (10) beschrieben BRAMSTEDT und AHRENS signifikante Unterschiede für alle Fermente des Kohlehydratabbaus mit Ausnahme der Amylase und erklärten damit die in den VIPEHOLM-Untersuchungen festgestellte unterschiedliche oral sugar clearance bei KA. und KR.. Bezüglich der oral sugar clearance-time drückt sich SWENANDER-LANKE (11), der von BRAMSTEDT als eindeutiger Befürworter der verzögerten sugar clearance bei KA. angegeben wird, jedoch recht vorsichtig aus. Als Schlußfolgerung seiner Untersuchungen über die Eliminationsgeschwindigkeit der Zucker aus der Mundhöhle schreibt er: "..... muß man wohl sagen, daß die Bestimmung der Eliminationskonstanten einen unsicheren Karies-Test darstellt. Eine nur beinahe signifikante, nur mäßige Korrelation erlaubt keine einwandfreie Beurteilung". Er weist weiter darauf hin, daß die Zuckerlimination das Resultat der Wirkung vieler Faktoren ist, von denen die Produktion und die Viskosität, sowie die Amylase-Aktivität des Speichels, der Zuckerverbrauch der anaeroben Bakterien und die Bewegungsaktivität der Lippen und der Zunge eine große Rolle spielen.

BRAMSTEDT und AHRENS (10) bezeichnen weiterhin in dieser Arbeit die Aldolase-Aktivität als empfindlichen Indikator für sich anbahnende morphologische Verände-

rungen der Zahnsubstanz und stellten fest, daß die Aktivität dieses Fermentes v o r der klinischen Beobachtung kariöser Läsionen stark absinkt und nach der Behandlung der Zähne (Füllungstherapie) wieder ansteigt. Sie weisen noch darauf hin, daß sich alle Ergebnisse auf unstimulierten Ruhe-Nüchtern-Speichel beziehen und daß in stimuliertem Speichel keine Unterschiede zwischen KA. und KR. zu messen sind. Hingegen ergaben Untersuchungen selbst von Tagesspeichel noch statistisch gesicherte Unterschiede (10).

Auf die engen Beziehungen zwischen Sauerstoffverbrauch und Aldolase-Aktivität weisen BRAMSTEDT, NAUJOKS und BENEDIKT 1963 (12) in erneuten Untersuchungen über die oral sugar clearance und Ferment-Aktivität im menschlichen Speichel hin: "Die Begrenzung des Zuflusses zum Citronensäurecyklus durch verminderte Hexokinase- und Aldolase-Aktivität schränkt naturgemäß die vollständige Verbrennung der Substrate ein. Wenn die Ferment-Aktivitäten im Speichel KA., insbesondere die Aldolase, etwa im Verhältnis 3:1 vermindert sind, so kann auch nur 1/3 der Substratmengen in den Citronensäurecyklus gelangen. Durch dieses verminderte Substratangebot an den Citronensäurecyklus wäre die verminderte Sauerstoffaufnahme zu erklären".
Über die oben zitierten Speicheluntersuchungen hinaus

wurden von dem Hamburger Arbeitskreis die Plaques auf ihr Säurebildungsvermögen und auf ihre Ferment-Aktivitäten untersucht (13). Dabei wurde die Vermutung geäußert, daß es bei KA. durch einen Block im Kohlehydratabbau auf der Stufe des Fruktose-1-6-diphosphates zu einem Anstau von Stoffwechselmetaboliten im Speichel komme. Dadurch entstünde ein Diffusionsgefälle gegenüber den Plaques, das sich durch verstärktes Einströmen von Kohlehydraten in diese auszugleichen suche. Das vorwiegend anaerobe Plaquessystem benutze dieses Überangebot an Kohlehydraten als Substrat zur Säurebildung.

Diese Annahme setzt voraus, daß in den Plaques ein hochaktiviertes Fermentsystem lokalisiert sein muß. Zudem müßte sich das unterschiedliche Substratangebot bei KA. und KR. in einer unterschiedlichen Säureproduktion in den Plaques manifestieren.

BRAMSTEDT, RANKE und NAUJOKS (13) berichten auch tatsächlich in Untersuchungen über Aldolase-Aktivität und Säurebildungsvermögen, die sie an Streptokokken- und Neisserienstämmen, isoliert aus Plaques KA. und KR., anstellten, daß die Aldolase-Aktivitäten der Neisserien- und Streptokokkenstämme der KR. sich deutlich von denen der KA. unterschieden. Die Werte der aus KA.-Plaques isolierten Stämme lagen wesentlich h ö h e r als die von KR. isolierten Stämme, wobei die Aldolase-

Aktivität der Streptokokken wiederum stärker war, als die der Neisserien. Auch für die Säurebildung fand sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Stämmen der KA. und KR., wobei die Milchsäurebildung die Produktion anderer organischer Säuren weit übertreffen soll. Die Autoren sprechen die Vermutung aus, daß sich in den Plaques anfälliger Personen Streptokokkenmutanten mit einer besonders hohen Aldolase-Aktivität ausgebildet haben. Am Schluß dieser Veröffentlichung heißt es: "Die Untersuchungen zeigen ferner, daß die einzelnen aus den Plaques verschiedener Personen isolierten Stämme sich sehr unterschiedlich in Bezug auf das Säurebildungsvermögen verhalten". Wenn sich die einzelnen isolierten Stämme aus den Plaques von KA.- und KR.-Personen tatsächlich so verschieden in ihrem Säurebildungsvermögen verhalten, wäre zu erwarten, daß diese unterschiedliche Säureproduktion auch bei Untersuchungen der g e s a m t e n Plaques (in Form von pH-Unterschieden) meßbar zum Ausdruck kommt.

EGGERS-LURA (14) beschäftigte sich 1959 mit derartigen Untersuchungen. Seine Ergebnisse stehen jedoch in direktem Gegensatz zu den eben zitierten von BRAMSTEDT et al.. Er stellt fest, daß die Plaqueflora bei KR.- und KA.-Personen einheitlich ist. Diese Feststellung deckt sich auch mit bisher unveröffentlichten Beobachtungen der Berliner Klinik. EGGERS-LURA fand in den Plaques einen meist niedrigeren pH-Wert als im

Speichel und interpretierte dieses Ergebnis mit der großen Pufferkapazität der Beläge. Der Autor kommt dabei zu dem Schluß: "Es ist dem Verfasser durch diese Versuche gelungen nachzuweisen, daß die K a r i e s r e s i s t e n t e n immer die g r ö ß t e n Säurebildner sind!"

PROBLEMSTELLUNG

Aufgrund der in der Literaturübersicht aufgezeigten gegensätzlichen Auffassungen verschiedener Autoren über das Stoffwechselgeschehen im Speichel kariesaktiver und kariesresistenter Personen erscheint eine erneute Überprüfung dieser Fragen notwendig. Die Arbeit von WILLIAM (5), in der k e i n e Zusammenhänge zwischen Karieszustand des Probanden und dem Sauerstoffverbrauch des Speichels gefunden wurden, wirft erneut das Problem auf, ob Zusammenhänge zwischen Karieszustand und Aldolase-Aktivität bestehen, wie es in der Literatur berichtet wird. In dieser Problemstellung ist dann auch die Frage nach einer möglichen Brauchbarkeit der Aldolase-Aktivitäts-Messung als Karies-Test eingeschlossen.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

A. Probandenauswahl

Für die geplanten Untersuchungen war es notwendig, die Probanden nach ihrem Karieszustand auszusuchen. Wir teilten in zwei Gruppen ein und zwar in:

1. Probanden, die zum Zeitpunkt der Speichelentnahme ein vollbezahntes, füllungs- und kariesfreies Gebiß aufwiesen (KF.).

2. Probanden, die zum Zeitpunkt der Speichelentnahme mindestens fünf zahnärztlich versorgungsbedürftige Zähne aufwiesen (KB.).

Von jeder Gruppe wurden 40 Personen nach diesen Gesichtspunkten ausgewählt und untersucht. Die Tafel I gibt Auskunft über die altersmäßige Verteilung der Probanden

Probanden	männl.	weibl.	KB.	KF.
unter 20	1	1	1	1
zwischen 20+25	27	3	14	16
zwischen 25+30	24	-	8	16
zwischen 30+35	8	-	7	1
über 35	7	1	6	2

Tafel I

Mit diesem strengen Auswahlmodus wurde der Arbeitsweise WILLIAMs gefolgt (5).

Wir sind jedoch der Ansicht, daß die Bezeichnungen "kariesaktiv" und "kariesresistent" selbst bei Anlage so strenger Maßstäbe nicht ganz zu Recht bestehen, denn es gibt bis heute keine Möglichkeit, mit Sicherheit den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem ein Mensch kariesaktiv oder kariesresistent ist. Es ist also nicht möglich eine Diagnose zu stellen, wohl aber kann man zu einem definierten Zeitpunkt (bei uns der der Speichelentnahme) einen Befund erheben und diesen als Bewertungsmaßstab für die Probandenauswahl heranziehen. Entsprechend der Befunderhebnug teilt man also ein in k a r i e s f r e i e Probanden (KF) und k a r i e s b e f a l l e n e Probanden (KB). Auf die Vorteile dieser Methode gegenüber sonst geübten Auswahlverfahren (z.B.DMF) und auch auf die Schwierigkeiten, die diese Art der Versuchspersonenauslese mit sich bringen, hat WILLIAM in seiner Arbeit hingewiesen.

Der größte Teil der in den Hautversuchen untersuchten Personen waren Patienten und Studenten der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin. Für die Vorversuche wurde Speichel von Mitarbeitern und Studenten herangezogen.

In die Versuchsreihen, die ein dreitägiges Unterlassen jeglicher Mundpflege von den beteiligten Probanden erforderten, waren nur engste Mitarbeiter und Familienmitglieder einbezogen, so daß eine stete Kontrolle auf Einhaltung der Versuchsbedingungen gewährleistet war. Bei den Vorversuchen fand der Gebißzustand der Probanden keine Berücksichtigung, es wurde jedoch immer darauf geachtet, daß Ruhe-Nüchtern-Speichel zur Untersuchung gelangte.

B. Entnahme des Untersuchungsmaterials

Untersucht wurde unstimulierter Ruhe-Nüchtern-Speichel, der sofort nach dem Erwachen in ein bereitgehaltenes Röhrchen gespieen wurde. Das Röhrchen war vorher sterilisiert worden und mit einem Schliffstopfen verschließbar.

Dem Probanden wurden ungefähr 3,0 ml Speichel entnommen. Durch diese relativ geringe Menge gelang es, die Speichelentnahme abzuschließen bevor der Verdünnungseffekt durch den verstärkt einsetzenden Speichelfluß, bei vielen Personen allein durch den Vorgang des Speiens angeregt, zu groß wurde. Die Speichelentnahme fand morgens zwischen 6.30 und 7 Uhr statt. Das Untersuchungsmaterial wurde noch am gleichen Morgen untersucht.

UNTERSUCHUNGSMETHODEN

A. Methode des Hamburger Arbeitskreises

Zur Erfassung des Reaktionsablaufes:

Fruktose 1,6-diphosphat $\rightleftharpoons$ Glycerinaldehydphosphat + Dioxyacetonphosphat,

der von der Aldolase katalysiert wird, stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Da es hier zunächst darum ging, die Ergebnisse von BRAMSTEDT und Mitarbeitern zu reproduzieren, wurde versucht, auch deren Methodik zu übernehmen.

BRAMSTEDT und Mitarbeiter schreiben (12), daß sie die Aldolase-Aktivität nach der enzymatischen Methode von BRUNS (15) bestimmt haben und verweisen anstelle einer Versuchsbeschreibung auf die Gebrauchsanweisung der Boehringer Testkombination TC-15974. Diese stellt einen Enzym-Test zur Bestimmung der Serum-Aldolase dar.

Bei einem Vergleich der Originalarbeit von BRUNS (15) über die Bestimmung und Eigenschaften der Serum-Aldolase mit der Arbeitsvorschrift zu der Testkombination TC-15974 der Firma Boehringer fällt jedoch auf, daß es sich um zwei grundverschiedene Methoden handelt. Der Boehringer-Test stellt einen sog. UV-Test dar, bei dem der Umsatz von DPNH bei der Reaktion

Fruktose 1,6-diph. + 2 DPNH + 2 $H^+ \rightleftharpoons$ 2 Glyceroph. + 2 DPH

gemessen wird. Der Verbrauch an DPNH ist dabei proportional der gespaltenen Menge Frktose 1,6-diphosphat.

BRUNS (15) hingegen gibt ein Verfahren an, das auf einer Reaktion der Triphosphate mit 2,4-Dinitrophenylhydrazien beruht.

Diese Unklarheiten in der Veröffentlichung über die angewandte Methode konnten durch eine Anfrage an Herrn Priv.-Doz. OA. Dr. Ahrens beseitigt werden. Er stellte uns freundlicherweise eine genaue Arbeitsvorschrift der Methode des Hamburger Arbeitskreises zur Verfügung. Aus ihr geht hervor, daß mit dem sog. UV-Test von Boehringer, allerdings für den eigenen Bedarf modifiziert, gearbeitet wurde, bei einer Speichelverdünnung von 1:8. Gemessen wurde gegen einen Speichel-Blindwert in der gleichen Verdünnung. Um eine gleichmäßige Verteilung der korpuskulären Elemente des Speichels im Augenblick der Messung in Untersuchungsansatz und Blindwert zu erhalten, wurden beide Ansätze vor der Messung mit einem Galsstäbchen umgerührt.

In Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Mitarbeitern der Firma Boehringer wurde versucht, die von AHRENS mitgeteilte Methode nachzuahmen. Es gelang jedoch n i c h t, sicher reproduzierbare Werte zu ermitteln. Der Grund dafür wird in dem Umrühren der Meßlösungen

in den Küvetten gesehen,denn es gelingt nicht, die für eine exakte Messung notwendige homogene Beschaffenheit der Ansätze zu sichern, da die zelligen Bestandteile des Speichels in Form, Größe und Vertielung zu verschieden sind.

Eigene Methodik

Diese erheblichen Unsicherheitsfaktoren, mit denen nach unseren Vorversuchen die von BRAMSTEDT und Mitarbeitern angewandte Methode behaftet,ist gaben Veranlassung, die Untersuchungen nach einem anderen Verfahren vorzunehmen. Um von klaren Meßlösungen in den Küvetten ausgehen zu können, wurde der Aldolase-Farbtest von Boehringer erprobt. Es handelt sich dabei um die von BRUNS für Serumuntersuchungen angegebene Methode. Die Verwendung der Biochemika Test-Kombination von Boehringer erleichtert jedoch die technische Durchführung erheblich.

Zu dem Test werden Konzentrate der benötigten Reagenzien geliefert, aus denen man sich nach Vorschrift Arbeitslösungen herstellt.

Lösung 1: Collidin-Puffer / Fruktose 1,6-diphosphat
2,4,6-Trimethylpyridin
= Collidin Monojodacetat / Fruktose 1,6-diphosphat, Na-Salz Hydrazinsulfat

Lösung 2: 2,4-Dinitrophenylhydrazin (Chromogen) gelöst in konzentrierter HCl

Ferner wurden an Reagenzien benötigt:
Trichloressigsäure 10 %ig
0,75 n NaOH.

Das Prinzip der Methode beruht darauf, daß das Ferment Aldolase spezifisch Fruktose 1,6-diphosphat in die beiden C-3-Zucker Glycerinaldehydphosphat und Dioxyacetonphosphat spaltet.

Diese beiden Spaltprodukte werden sofort von Hydrazin abgefangen. Nach einer bestimmten Zeit wird die Reaktion durch Trichloressigsäure unterbrochen. Eine darauf folgende kurze Hydrolyse mit NaOH bewirkt die Abspaltung der Phosphate der Triosen. Die Triosen setzen sich mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin um,und die entstehenden Phenylhydrazone bilden im alkalischen Milieu eine rotbraune Farbe. Ihre Intensität ist proportional der Menge der entstandenen Triosen und somit ein Maß für das pro Zeiteinheit gespaltene Fruktose 1,6-diphosphat, also damit auch für die Aldolase-Aktivität.

Die Durchführung der Methode erfordert vor Beginn jeder Untersuchung eine Kontrolle der pH-Werte des Speichels und des Collidinpuffers.

Durch mehrmaliges Aufsaugen und scharfes Ausspritzen der Speichelprobe mit einer Rekord-Spritze wird der Speichel gut durchgemischt. Dann werden nacheinander unter Einhaltung der Reihenfolge in sterilisierte Reagenzgläser einpipettiert:

Probe:	2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6 diph.
	1,0 ml Speichel
Leerwert:	2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6 diph.

Diese Ansätze werden durch leichtes Schütteln gemischt und nach der Uhr eine Stunde bei 37° im Wasserbad

inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wird die Reaktion im Untersuchungsansatz durch Zugabe von 3,0 ml Trichloressigsäure gestoppt und auch dem Leerwert werden 3,0 ml Trichloressigsäure und im Anschluß daran 1,0 ml Speichel zugesetzt. Beide Ansätze werden gleichermaßen jetzt weiterbehandelt indem zwei mit ml-Eichung versehene Reagenzgläser nacheinander mit je

1,0 ml enteiweißtem Filtrat und

1,0 ml NaOH (alk. Hydrolyse)

beschickt werden. Nachdem die Röhrchen 10 Minuten bei Zimmertemperatur gestanden haben, werden sie mit je 1,0 ml 2,4-dinitrophenylhydrazin versetzt und erneut 10 Minuten bei 37° im Wasserbad inkubiert. Nach dieser Zeit werden die Röhrchen dem Wasserbad entnommen und die Ansätze mit NaOH auf 10,0 ml aufgefüllt. Dabei entsteht eine rotbraune Färbung. Sie wird nach 10 Minuten gegen den Leerwert bei 546 µm (Hg-Filter) mit dem Photometer Eppendorf gemessen. Die Schichtdicke in den Küvetten beträgt 10,0 mm.

Da die Pufferkapazität des Collidinpuffers ausreicht, einen pH des Untersuchungsansatzes von 7,4 zu gewährleisten, und die Aldolase nach Angaben von BRUNS (17) und nach eigenen Voruntersuchungen bei Verwendung des Collidinpuffers ein breites pH-Optimum zwischen pH 7 und pH 8 aufweist, ist es berechtigt, den ursprünglich für die Bestimmung der Serum-Aldolase entwickelten

Test original für die Speicheluntersuchungen zu übernehmen.

Allerdings erfüllt dieser Test nicht alle Forderungen, jedoch erscheint er für die Speicheluntersuchungen darum viel geeigneter als der UV-Test in der Modifikation von BRAMSTEDT, weil hierbei nach Ablauf der Reaktion mit Trichloressigsäure enteiweißt und anschließend filtriert wird. Auf diese Weise gelangen klare Meßlösungen in die Küvetten. Der Einwand, daß dieser Test von seiner Natur her unempfindlicher ist als der Test, der auf der Messung des DPNH-Umsatzes beruht, ist im Zusammenhang mit der Problemstellung dieser Arbeit ohne Bedeutung, da es hier um die Feststellung von Unterschieden und nicht von Maximal-Werten geht. Diese Unterschiede müssen, wenn sie so signifikant vorhanden sind wie in der Literatur beschrieben, mit dem Farb-Test herauszuarbeiten sein, selbst wenn die gemessenen Absolut-Werte insgesamt niedriger liegen sollten!

Bezugssysteme für die Berechnung

In dem Bestreben, den Untersuchungen BRAMSTEDT's und seiner Mitarbeiter zu folgen, wurden in der ersten Versuchsreihe die Werte für die Aldolase-Aktivität auf 1 ml Speichel und 1 Stunde berechnet.

Es erhoben sich dann im Laufe der Versuche aber Zweifel an der Verläßlichkeit dieser Berechnungsgrundlage, auf die später noch eingegangen wird. Darum wurden in einer zweiten Untersuchungsreihe parallel zu den Aldolase-Bestimmungen Trockensubstanz-Bestimmungen des untersuchten Speichels durchgeführt und die Aldolase-Aktivitäten dann auf 1 mg Trockensubstanz umgerechnet.

Die Aldolase-Aktivität wird in BRUNS-Einheiten angegeben, wobei eine solche Einheit vorliegt, wenn 1,0 ml des Untersuchungsmaterials pro Stunde bei 37°C 1,0 cmm Fruktose spaltet. Der Eichfaktor für die Umrechnung von der gemessenen Extinktion der Farblösung auf Aldolase-Einheiten wurde von BRUNS mit 37 angegeben und in dieser Arbeit übernommen. Zur Ermittlung der Aldolase-Einheiten im Speichel ist die gemessene Extinktion also mit 37 zu multiplizieren.

Zur Prüfung der Methode auf Reproduzierbarkeit der Werte wurde kristalline Aldolase verwendet. In zwei Versuchsreihen wurde an verschiedenen Tagen einmal mit einer Verdünnung von 1:50 und einmal von 1:100 die reine Aldolase als Enzymquelle benutzt. Gemessen wurde gegen einen Leerwert, der anstelle der Enzymlösung aqua bidestillata enthielt.

1. Reihe: Probe: 1,0 ml Aldolase 1:50 verdünnt
2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6-diph.
Leerwert: 1,0 ml aqua bidestillata
2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6-diph.

Es wurden fünf Untersuchungsproben (UP) unter den gleichen Bedingungen angesetzt. Die Extinktionen, gemessen bei einer Durchlässigkeit des Leerwertes von 100 betrugen:

Extinktion UP_1: 2,10
UP_2: 2,00
UP_3: 2,15
UP_4: 2,00
UP_5: 1,95

2. Reihe: Probe: 1,0 ml Aldolase 1:100 verdünnt
2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6-diph.
Leerwert: 1,0 ml aqua bidestillata
2,0 ml Collidinpuffer / Fruktose 1,6-diph.

Die Extinktionen für die vier angesetzten Untersuchungsproben betrugen bei einer Durchlässigkeit des Leerwertes von 100:

Extinktion UP_1: 1,16

UP_2: 1,18

UP_3: 1,16

UP_4: 1,15.

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des angewandten Verfahrens wurde der Näherungswert der Standartabweichung gerechnet. Dazu wurde nach DOERFEL (21) die Formel zur Bestimmung der Standardabweichung aus Analysenergebnissen von Proben verschiedenen Gehaltes benutzt. Die Standardabweichung läßt sich aus den Werten der Parallelbestimmungen berechnen, wobei N die Zahl der Messung, x den Meßwert und $\bar{x}$ den Mittelwert der durch Index bezeichneten Reihe angibt. Die Formel lautet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_{i1} - \bar{x}_1)^2 + (x_{i2} - \bar{x}_2) + \ldots \sum (x_{iM} - \bar{x}_M)^2}{N - M}}$$

$$= \sqrt{\frac{\sum \sum (x_{ij} - \bar{x}_j)^2}{N - M}}$$

Einzelheiten für die Berechnung sind dem Kapitel 3, Abschnitt 2: "Reproduzierbarkeit von Analysenverfahren" aus DOERFEL (21) entnommen worden.
Es wurden für den vorliegenden Fall

$$s = 0{,}023\ \%$$

als Reproduzierbarkeit des Verfahrens gefunden.

VORUNTERSUCHUNGEN

In orientierenden Vorversuchen sollten folgende Punkte geklärt werden:

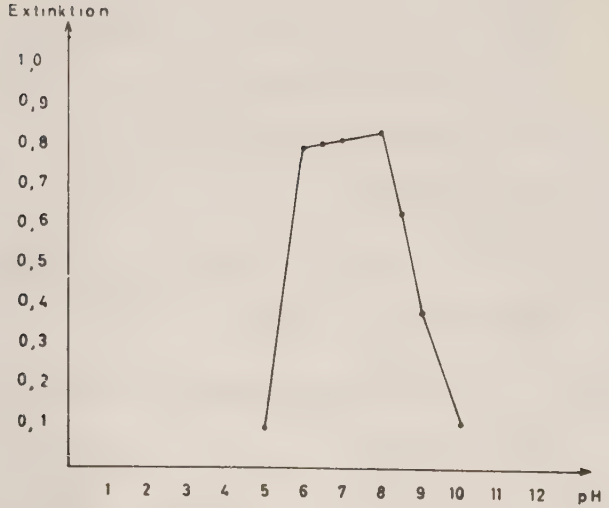
1.) Der Einfluß des pH des Untersuchungsansatzes auf die Messung (Feststellung des optimalen pH-Bereiches für die Speichel-Aldolase).
2.) Wie verhalten sich die meßbaren Aldolase-Aktivitäten von Speichelproben einer Untersuchungsperson, entnommen zu verschiedenen Tageszeiten?
3.) Wie verhalten sich die meßbaren Aldolase-Aktivitäten von Speichelproben einer Untersuchungsperson, entnommen an verschiedenen Tagen, jedoch zu gleichen Tageszeiten?
4.) Sind im Speichel-Überstand Aldolase-Aktivitäten vorhanden?
5.) Wie wirkt sich eine Zerstörung der zelligen Bestandteile des Speichels auf die Aldolase-Aktivität aus?
6.) Sind im reinen Parotis-Sekret Aldolase-Aktivitäten vorhanden?

zu 1) Zur Klärung dieser Frage wurde Speichel einer Versuchsperson bei unterschiedlichen pH-Verhältnissen im Untersuchungsansatz auf seine Aldolase-Aktivität untersucht. Es wurden Untersuchungsansätze mit den

dazugehörenden Leerwerten mit folgenden pH-Werten hergestellt:

pH 5,0; pH 6,0; pH 6,5; pH 7,0; pH 7,5; pH 8,0; pH 8,5; pH 9,0; pH10,0.

Mit diesen Ansätzen wurde der Aldolase-Farbtest durchgeführt.
Die Tafel II zeigt eine graphische Darstellung des Verhaltens der Speichel-Aldolase unter verschiedenen pH-Verhältnissen.



TAFEL II

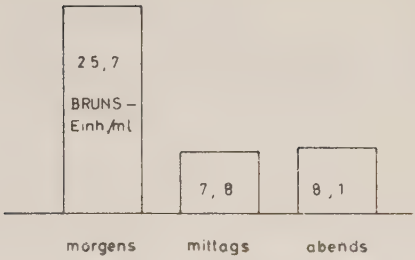
Die Speichel-Aldolase weist ein breites pH-Optimum zwischen pH 7,0 und pH 8,0 auf. Sowohl im stark saueren als auch im stark alkalischen Bereich scheint die Aldolase in ihrer Aktivität gehemmt zu werden. Die se Befunde stimmen mit den Untersuchungsergebnissen von BRUNS für die Serum-Aldolase überein.

Der pH-Wert der Untersuchungsansätze in den Hauptversuchen bewegte sich in Abhängigkeit von den pH-Werten der jeweiligen Speichelprobe, zwischen pH 7,3 und pH 7,4.

zu 2) Um festzustellen ob die Aldolase-Aktivität im Speichel tageszeitlichen Schwankungen unterliegt, wurde von Versuchspersonen zu verschiedenen Zeiten Speichel entnommen. Die Entnahme erfolgte:

a) sofort nach dem Erwachen
b) vor der Mittagsmahlzeit
c) vor der Abendmahlzeit.

Es zeigt sich, daß die höchsten Werte im Ruhe-Nüchtern-Speichel zu messen sind. Die niedrigsten Werte wurden gegen Mittag gemessen und bei den abends entnommenen Spchchelproben stiegen die Werte wieder an. Die ser letzte Befund ergab sich jedoch nicht regelmäßig.



Tafel III Am Beispiel eines Probanden soll dargestellt werden, wie sich die Aldolase-Aktivitäten im Speichel im Verlaufe eines Tages ändern können.

zu 3) Entsprechend der Fragestellung (s.o.) wurden Probanden an verschiedenen Tagen Speichelproben sofort nach dem Erwachen entnommen und auf ihre Aldolase-Aktivität untersucht. Es zeigte sich, daß die Aldolase-Aktivität eines Menschen nicht nur tageszeitlichen Schwankungen unterliegt, sondern auch an

verschiedenen Tagen recht unterschiedlich sein kann. Zur Verdeutlichung der Größenanordnungen, in denen sich derartige Schwankungen bewegen können, diene das in Tafel IV gezeigte Beispiel eines Probanden.

TAFEL IV:

Am 22.10.64.	31,54 BRUNS - Einheiten /ml
Am 27.10.64.	25,72 BRUNS - Einheiten /ml
Am 24. 3.65.	51,43 BRUNS - Einheiten /ml

Tafel IV

zu 4) und 5) Es wurde 36 Versuchspersonen Ruhe-Nüchtern-Speichel entnommen und 20 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde dem Aldolase-Farbtest unterzogen, das Sediment gewaschen (mit aqua bidestillata) und dann ebenfalls untersucht. Im Überstand waren jedesmal meßbare Werte vorhanden. Der Durchschnitt wurde aus den 36 Messungen errechnet; er betrug für den Gesamt-Speichel 40,54 BRUNS-Einheiten und

für den Überstand 22,01 BRUNS-Einheiten pro ml. Daraus ergibt sich ein ungefähres Verhältnis vom Gesamt-Speichel zum Überstand wie 2:1.

Die für das Sediment gemessenen Werte lagen niedriger, jedoch ließ sich ein deutlicher Anstieg der Aldolase-Aktivität durch Behandlung des gewaschenen Sedimentes (im Wasser ließ sich nach der zweiten Waschung keine Aldolase-Aktivität mehr messen) mit hypotoner NaCl-Lösung erzielen. Dasselbe Ergebnis zeigte der mit hypotoner Lösung versetzte Gesamt-Speichel im Vergleich zum normalen Gesamt-Speichel. Daraus geht hervor, daß im menschlichen Speichel f r e i e und z e l l g e b u n d e n e Aldolase vorhanden ist.

zu 6) Der Parotis-Speichel wurde in Anlehnung an die Methode von CURBY durch Aufsetzen eines kleinen Plastiksaugnapfes auf den Ausgang des Ductus paroticus gewonnen. Der Saugnapf war mit einem dünnen Schlauch versehen, durch den das Parotis-Sekret abfließen und aufgefangen werden konnte.

Der Parotis-Speichel ließ nur eine ganz geringe Aldolase-Aktivität erkennen. Die Werte lagen zwischen 1 und 2 BRUNS-Einheiten pro ml. Diese niedrigen Werte bestätigten die Annahme, daß die Aldolase des Gesamt-Speichels von den Zellen geliefert wird, mit denen sich das reine Drüsensekret in der Hauptsache erst im Kontakt mit der Mundschleimhaut, der Zunge, den Tonsillen und sicher auch der Atemluft anreichert.

HAUPTVERSUCHE

Erste Fragestellung: Bestehen Unterschiede in der Aldolase-Aktivität des Ruhe-Nüchtern-Speichels kariesfreier (KF.) und kariesbefallener (KB.) Personen?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden zunächst 40 KF. und 40 KB. untersucht. Die Messung der Aldolase-Aktivität wurde nach der weiter oben beschriebenen Methode durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den beiden folgenden Tabellen zusammengestellt. Die erste Tafel zeigt die Werte, angegeben in BRUNS-Einheiten pro ml Ruhe-Nüchtern-Speichel für die KF.-Probanden, die andere Tafel die für die KB.-Probanden. Für die KF. wurde der höchste Wert mit 88,66, der niedrigste Wert mit 5,18 BRUNS-Einheiten gemessen. Der Durchschnitt aus den Versuchen war 41,32 $\pm$ 2,94 BRUNS-Einheiten/ml. Bei den KB. war der höchste Wert 86,95 BRUNS-Einheiten, der niedrigste Wert 6,29 BRUNS-Einheiten. Der Durchschnitt war 42,91 $\pm$ 3,11 BRUNS-Einheiten/ml.
Bei der Betrachtung der Einzelwerte in den Tabellen fällt auf, daß die Aldolase-Aktivität im Speichel starken individuellen Schwankungen unterworfen ist. Die Schwankungen finden sich gleichermaßen bei KF. und KB.

Proband	Alter	Geschlecht	BRUNS-Einh.
1	26	männl.	39,22
2	23	männl.	13,14
3	26	männl.	23,68
4	23	männl.	30,89
5		männl.	5,95
6	38	weibl.	21,28
7		männl.	15,03
8	28	männl.	9,99
9	23	weibl.	74,00
10	28	männl.	42,18
11	25	männl.	33,30
12	28	männl.	29,00
13	25	männl.	88,66
14	22	männl.	61,05
15	24	männl.	51,43
16	20	weibl.	39,59
17	29	männl.	37,00
18	23	männl.	40,70
19	50	männl.	60,68
20	29	männl.	56,61
21	26	männl.	49,95
22	22	weibl.	49,95
23	23	männl.	47,73
24	27	männl.	59,20
25	30	männl.	40,70
26	23	männl.	50,32
27	21	männl.	6,66
28	27	männl.	47,36
29	27	männl.	45,14
30	25	männl.	42,18
31	26	männl.	32,56
32	27	männl.	56,98
33	24	männl.	65,68
34	25	männl.	48,47
35	26	männl.	48,84
36	32	männl.	48,10
37	23	männl.	42,55
38	28	männl.	48,10
39	24	männl.	42,92
40	21	männl.	5,18

Durchschnitt: 41,32 $\pm$ 2,94 BRUNS-E.
Höchster Wert: 88,66 BRUNS-E.
Niedrigster Wert: 5,18 BRUNS-E.

Tafel V: Aldolase-Aktivität bei KF.
Angaben in BRUNS-Einheiten
pro ml Ruhe-Nüchtern-Speichel

Proband	Alter	Geschlecht	BRUNS-Einh.
41	24	männl.	11,62
42	28	männl.	35,15
43	17	männl.	33,67
44	23	weibl.	86,95
45	25	männl.	83,25
46	25	weibl.	44,45
47	36	männl.	69,56
48	33	männl.	40,70
49	23	männl.	46,25
50	26	männl.	24,42
51	37	männl.	43,29
52	31	männl.	26,64
53	26	männl.	32,19
54		männl.	39,96
55	25	männl.	47,50
56	35	männl.	45,88
57	24	männl.	81,40
58	37	männl.	40,33
59	45	männl.	37,00
60	26	männl.	31,82
61	26	männl.	61,42
62	50	männl.	11,98
63	23	männl.	55,87
64	30	männl.	49,95
65	39	männl.	34,78
66		männl.	6,29
67	24	männl.	35,15
68	26	männl.	27,28
69	30	männl.	56,24
70	25	männl.	18,50
71	35	männl.	39,22
72	29	männl.	57,72
73	43	männl.	38,05
74	23	männl.	48,10
75	27	männl.	18,30
76	24	männl.	74,00
77	24	männl.	38,11
78	35	männl.	30,34
79	22	männl.	61,79
80	25	männl.	51,43

Durchschnitt: 42,91 $\pm$ 3,11 BRUNS-E.

Höchster Wert: 86,95 BRUNS-E.

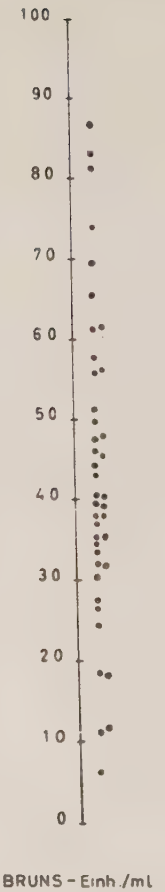
Niedrigster Wert: 6,29 BRUNS-E.

Tafel Va: Aldolase-Aktivitäten bei KB.
Angaben in BRUNS-Einheiten
pro ml Ruhe-Nüchtern-Speichel

Die für die beiden Reihen berechneten Mittelwerte unterscheiden sich nur geringfügig, und zwar liegt der Durchschnitt für die KB. mit 42,91 BRUNS-Einheiten pro ml um 1,59 über dem der KF. Die Berechnung der mittleren Streuung der Mittelwerte zeigt jedoch, daß auch dieser geringe Unterschied ohne Aussagekraft ist, da er innerhalb der Streuung liegt.
Aus der Messung geht deutlich hervor, daß k e i n U n t e r s c h i e d d e r A l d o l a s e - A k t i v i t ä t i m S p e i c h e l KF. u n d KB. b e s t e h t.
In den Tafeln 6 und 7 sind die beiden Meßreihen durch Auftragen der einzelnen Befunde als Punkte auf einer Geraden mit Längseinteilung graphisch dargestellt. Das Bestreben dabei war es, Aufschluß über Symmetrie, Konzentration und Verteilung der Einzelresultate sowie über ein eventuelles unterschiedliches Bild der beiden Untersuchungsreihen zu erhalten.
Es zeigt sich dabei ebenfalls k e i n Unterschied zwischen KF. und KB.. Auf beiden Geraden finden sich in den oberen und unteren Extrembereichen Punkte, und die meisten Werte liegen bei beiden Bildern zwischen 20 und 50. Besonders ausgeprägte Symmetrie - oder Ballungszentren - sind nicht zu erkennen.

TAFEL VI: KF.

TAFEL VII: KB.



Die Speichel-Aldolase-Aktivitäten sind auf einer Geraden mit Längseinteilung aufgetragen.

Zweite Fragestellung: Ist die Maßeinheit "ml" als Bezugssystem für Speichel-untersuchungen geeignet und lassen sich bei der Wahl eines anderen Bezugssystems Unterschiede in der Aldolase-Aktivität des Speichels KF.- und KB.-Probanden feststellen?

Gemäß dem "Report of the Commission on enzymes of the International Union of Biochemistry" (IUB) 1961 wird die Enzym-Aktivität auf 1,0 ml Untersuchungsmaterial bezogen. Für alle homogenen Untersuchungsmaterialien mag diese Berechnungsgrundlage die unkompliziertesten sein und auch sehr gut vergleichbare Ergebnisse liefern. Der Speichel, so wie er aus dem Munde entnommen wird, stellt jedoch ein ausgesprochen inhomogenes Gemisch von Bakterien, Epithelzellen, Leukozyten und Hefen, suspensiert im mukös-serösen Sekret der Speicheldrüsen dar. Die Ferment-Aktivitäten, die in diesem Speichel vorhanden sind, sind aber in erster Linie eine Leistung seiner zelligen Bestandteile. Es ist daher durchaus fraglich, ob in je einem ml Speichel die gleiche Anzahl und Art von Zellen enthalten sind. Damit wird aber auch das Bezugssystem "ml Speichel" in Frage gestellt.

Derartige Überlegungen haben uns veranlaßt, die Frage nach Unterschieden in der Speichel-Aldolase-

Aktivität kariesfreier und kariesbefallener Personen erneut, jedoch unter Wahl eines anderen Bezugssystems zu stellen. Wir haben also bei 29 Probanden, davon 14 KF. und 15 KB., die Aldolase-Aktivität im Speichel auf 1 mg Trockensubstanz bezogen. Dabei wurde so vorgegangen, daß von der Speichelprobe, die auf die Aldolase-Aktivität untersucht wurde, gleichzeitig eine Trockensubstanzbestimmung von 1 ml der gleichen Probe vorgenommen wurde. Die Aldolase-Aktivität eines ml wurde dann umgerechnet auf 1 mg Trockensubstanz.

TAFEL VIII Aldolase-Aktivitäten bei KF
Angaben in BRUNS-Einheiten
pro 1mg Trockensubstanz.

BRUNS-Einh./ 1ml Speichel	mg Trockensubst./ 1ml Speichel	BRUNS-Einh./ 1mg Trockensub
48,10	14,40	3,34
42,55	14,20	2,99
48,10	19,20	1,80
42,92	14,40	2,89
5,18	4,80	1,70
38,48	6,60	5,83
46,25	6,80	6,80
22,20	7,40	3,00
49,28	13,40	3,67
30,34	8,00	3,70
44,40	14,00	3,70
39,59	10,00	3,95
50,06	15,70	3,18
56,98	16,20	3,51

Durchschn. $3,49 \pm 0,36$

Die Tabellen 8 und 9 geben die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihen wider. Die Berechnung der Durchschnittswerte für die Aldolase-Aktivität eines mg Trockenmasse mit der Berechnung der mittleren Streuung dieser Mittelwerte zeigen,

TAFEL IX Aldolase-Aktivitäten bei KB.
Angaben in BRUNS-Einheiten
pro 1mg Trockensubstanz.

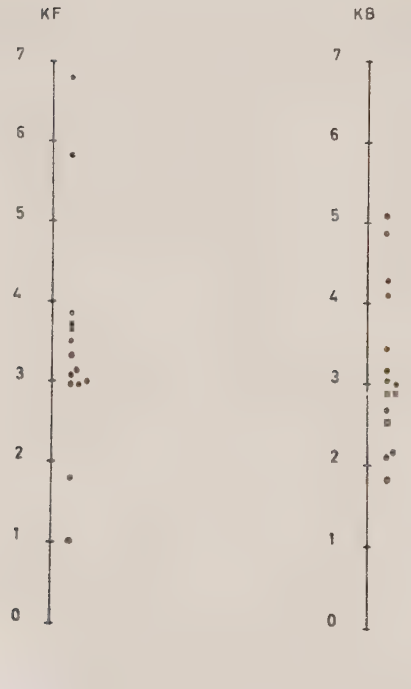
BRUNS-Einh./ 1ml Speichel	mg Trockensubst/ 1ml Speichel	BRUNS-Einheiten/ 1mg Trockensubst.
31,82	10,40	3,05
61,42	21,40	2,87
11,98	6,40	1,87
55,87	16,00	3,49
61,79	14,40	4,29
56,24	19,40	2,89
39,22	7,60	5,16
57,72	18,00	3,20
38,05	7,80	4,87
48,10	18,00	2,67
18,13	8,40	2,15
74,00	34,00	2,17
38,11	12,60	3,02
30,34	7,40	4,10
51,43	20,00	2,57

Durchschn: 3,22±0,25

daß auch hier k e i n e U n t e r s c h i e d e z w i s c h e n K F. u n d K B. f e s t z u s t e l l e n s i n d. Der Mittelwert für die Aldolase-Aktivität von 1 mg Trockenmasse bei KF. betrug 3,49 ± 0,336 und für KB. 3,22 ± 0,246 BRUNS-Einheiten.

In Tafel 10 sind die Einzelbefunde aus den Messungen entsprechend dem in Tafel 6 und 7 dargestellten Verfahren als Punkte auf einer Geraden mit Längseinteilung aufgetragen.

TAFEL X : Graphische Darstellung der gemessenen Aldolase-Werte in je 1 ml Gesamtspeichel, umgerechnet auf 1 mg Trockensubstanz. Die einzelnen Werte werden auf einer Geraden mit Längseinteilung abgetragen.



Dritte Fragestellung: Hat die Mundpflege der Untersuchungsperson einen Einfluß auf die Höhe der Aldolase-Aktivität im Speichel?

Im Laufe der vorangegangenen Untersuchungen wurde immer wieder beobachtet, daß die Speichelproben von Personen mit sehr schlechter Mundpflege, bei denen schon bei der ersten Untersuchung foetor ex ore, schmierige Beläge auf Zähnen und Gingiva und dunkle, feste Zahnbeläge auffielen, sich durch eine höhere Aldolase-Aktivität auszeichneten, als vergleichsweise die Speichelproben von Personen mit gepflegten Mundhöhlen. Ruhe-Nüchtern-Speichelproben solcher Probanden unterschieden sich auch schon beim Betrachten im Röhrchen von anderen Speichelproben. Sie hatten meist eine sehr hohe Viskosität, die oft sogar bis zu breiartiger Konsistenz reichte. Messungen derartiger Speichelproben ergaben dann immer ein sehr hohes Trockengewicht / ml.
Die Frage nach Beziehungen zwischen der Mundpflege und der Aktivität der Speichel-Aldolase erscheint in folgenden Zusammenhängen interessant:

a) für die Beurteilung der Aldolase-Aktivitätsmessung als Karies-Testmethode;
b) auf der Suche nach einer Erklärung für die in den vorangegangenen Untersuchungen gefundenen unterschiedlichen

Werte bei verschiedenen Personen.

Um dieser Frage nachzugehen, wurde von fünf Personen Ruhe-Nüchtern-Speichel untersucht, denen zur Aufgabe gemacht worden war, drei Tage auf jede bewußte Mundpflege zu verzichten (keine Zahnreinigung, kein Mundspülen, keine Anwendung desinfizierender Mundwasser usw.). Am ersten Tag, am zweiten Tag und am dritten Tag wurde sofort nach dem Erwachen je eine Speichelprobe entnommen und auf ihre Aldolase-Aktivität untersucht. Parallel dazu wurden Trockensubstanz-Bestimmungen des jeweiligen Speichels durchgeführt.

TAFEL XI : Aldolase-Aktivität in BRUNS-Einheiten und Trockensubstanz in mg/ml im Ruhe-Nüchtern-Speichel von Probanden, die 3 Tage keine Mundpflege betrieben haben. Die Speichelproben wurden am 1., am 2. und am 3. Tag entnommen.

Proband	Tag der Unters.	Ald.-Akt./ml	Trockens. mg/ml
R. Ba.	12.4.65.	34,78	12,10
	13.4.65.	51,06	24,10
	14.4.65.	55,13	25,20
D. Tr.	26.4.65.	39,59	21,90
	27.4.65.	50,32	26,80
	28.4.65.	52,91	27,50
U. Sei.	1.5.65.	85,41	39,00
	2.5.65.	96,46	41,60
	3.5.65.	99,90	44,10
M. Gö.	18.5.65.	29,97	8,90
	19.5.65	56,61	13,80
	20.5.65	59,20	15,00
J. Kl.	16.5.65	65,49	17,13
	17.5.65	79,92	24,80
	18.5.65	84,73	25,30

Die Tabelle 11 zeigt die am ersten, am zweiten und am dritten Tag gemessenen Werte. Bei allen fünf Personen waren diese am zweiten Tag größer als am ersten, am dritten größer als am zweiten Tag. Es zeigt sich also deutlich, daß die Höhe der Aldolase-Aktivität im Speichel stark von der individuellen Mundpflege der Untersuchungsperson beeinflußt wird. Mangelnde Mundhygiene läßt die Aldolase-Aktivität deutlich emporschnellen, so daß man vielleicht den Schluß ziehen kann, daß Menschen, die ihre Mundpflege vernachlässigen, im Speichel eine höhere Aldolase-Aktivität aufweisen als solche, die eine regelmäßige Mundhygiene betreiben. Der Karieszustand scheint in diesem Zusammenhang keine Rolle zu spielen.
Als Nebenfefund ergab sich bei den Untersuchungen, daß auch Entzündungsvorgänge in der Mundhöhle einen Einfluß auf die Höhe der Speichel-Aldolase-Aktivität zu haben scheinen. Es wurde nämlich beobachtet, daß in drei Fällen von Gingivitis ulcerosa und in einem Fall von hyperplastischer Schwangerschaftsgingiva (mens 3) die Aldolase-Werte des Speichels sehr hoch lagen. Von der Graviden konnte nach der Entbindung und nach dem Abklingen der entzündlichen Erscheinungen am marginalen Parodontium erneut Speichel entnommen werden. Der jetzt gemessene Wert lag wesentlich unter

dem zuvor gemessenen.

In einem der Gingivitis-ulcerosa-Fälle hatte die Patientin zugleich eine floride Glattflächenkaries (siehe Abbildung unten). Mit 83,25 BRUNS-Einheiten pro ml wies sie jedoch einen der höchsten von uns gemessenen Werte überhaupt auf. Nach BRAMSTEDT et al. müßte bei einer derartigen floriden Karies ein sehr n i e d r i g e r Speichel-Aldolase-Wert gefunden werden!

Floride Glattflächenkaries und entzündlich veränderte Gingiva bei einer Patientin mit h o h e r Speichel-Aldolase-Aktivität.

DISKUSSION

In zwei Versuchsreihen wurde der Ruhe-Nüchtern-Speichel von KF. und KB.-Probanden auf seine Aldolase-Aktivität untersucht. Es sollte geklärt werden, ob Unterschiede in der Höhe der Aktivitäten zu messen sind. Dabei konnte k e i n U n t e r s c h i e d z w i s c h e n d e n P r o b a n d e n g r u p p e n festgestellt werden!
Die Aldolase-Aktivität unterliegt zwar starken Schwankungen, die jedoch k e i n e n Z u s a m m e n h a n g m i t d e m K a r i e s b e f u n d d e r U n t e r s u c h u n g s p e r s o n e r k e n n e n l a s s e n!
Es ist nach diesen Untersuchungen also nicht möglich, allein aus dem Grad der Aldolase-Aktivität des Speichels Aussagen über den Karieszustand der betreffenden Person zu machen. D i e M e t h o d e d e r A l d o l a s e - A k t i v i t ä t s - M e s s u n g i m S p e i c h e l i s t s o m i t n i c h t a l s k l i n i s c h e r K a r i e s - T e s t b r a u c h b a r .
Die Ergebnisse unserer Untersuchungen stehen im Widerspruch zu den Befunden von BRAMSTEDT und seinen Mitarbeitern. Eine vollauf befriedigende Erklärung für die Diskrepanz der Ergebnisse war nicht zu finden. Einige Faktoren konnten jedoch

nachgewiesen werden, die von Bedeutung für die meßbaren Speichel-Aldolase-Aktivitäten sind und durchaus als Erklärungsmöglichkeit herangezogen werden können.
So ist es z.B. nicht gelungen, mit der von diesem Forscherkreis benutzten Methodik reproduzierbare Werte zu erhalten. Es wurde darüber bereits berichtet und auch darauf eingegangen, warum diese Methode für Speicheluntersuchungen nicht geeignet erscheint. Das Verfahren, die gemessenen Werte auf einen ml Speichel zu beziehen,wurde verlassen. Da der Gesamtspeichel ein homogenes Gemisch und keine Lösung darstellt, ist das Bezugssystem "ml" zu ungenau. Die suspensierten Partikel sind in ihrer Art und Morphologie so verschieden, daß es unmöglich erscheint, in zwei Gefäßen mit je 1 ml Speichel gleiche quantitative Verteilung dieser korpuskulären Elemente anzutreffen! Die Trockenmasse-Bestimmung erscheint deshalb als ein für Speicheluntersuchungen wesentlich geeigneteres Bezugssystem. Diese Meinung wird durch die vorliegenden Untersuchungen insofern bestätigt, als die auf ein mg berechneten Werte für die Aldolase-Aktivität der einzelnen Probanden erheblich dichter beieinander lagen, als die auf einen ml bezogenen Werte. Ein Unterschied zwischen KF. und KB. war jedoch auch hier nicht ersichtlich.
Es konnte ferner gezeigt werden, daß die Aktivität der Speichel-Aldolase im Laufe eines Tages schwankt

und auch bei der gleichen Versuchsperson an verschiedenen Tagen zu gleichen Tageszeiten durchaus unterschiedlich sein kann.

Weiterhin ist ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Höhe der Aldolase-Aktivität und der Mundhygiene des Probanden festzustellen. Eine schlechte Mundpflege fand stets ihren meßbaren Ausdruck in relativ hohen Werten sowohl für die Aldolase-Aktivität, als auch für die Trockenmasse/ml.

Neben der Mundpflege scheinen auch Entzündungsvorgänge der Mundschleimhaut, Parodontium und im Rachenraum die Höhe der Aldolase-Aktivität im Speichel zu beeinflussen. Dafür sprechen eigene Beobachtungen, und auch SILIMBANI und PRETOLANI diskutieren diese Möglichkeit. BURNETTI schreibt in der Zusammenfassung in den "Dental Abstracts" (16) über die Arbeit dieser Autoren: "Analysen bei Patienten mit Parodontia marginalis ergaben, daß das Verhältnis zwischen Speichel- und Blutspiegel dieses Enzyms (gemeint ist die Aldolase), statt normal 0,55, 0,75 bis 0,80 betrug, infolge von Vermehrung im Speichel oder möglicherweise infolge Verminderung im Blut". Es fehlen leider die Maßeinheiten für die angegebenen Werte, jedoch deckt sich der Befund der erhöhten Aldolase-Aktivität bei entzündlichen Vorgängen in der Mundhöhle mit den hier vorliegenden Beobachtungen. Diese Erscheinung wird mit gesteigerten Abschilferungs- und Zerfallsprozessen und mit erhöhter seröser und eitriger Exsudation der

entzündeten Schleimhaut zu interpretieren sein. Wahrscheinlich spielt auch die von vielen Patienten gerade bei bestehenden Entzündungen vernachlässigte Mundpflege eine Rolle. Dadurch werden die Mikroorganismen in ihrer Vermehrung und Ausbreitung und in ihrem Stoffwechsel stark gefördert. Eine Folge dieser Zustände wird die erhöhte Aldolase-Aktivität im Speichel sein.

Die Tatsache, daß die individuelle Mundhygiene einen Einfluß auf die Aldolase-Aktivität hat, in dem schlechte Mundpflege mit hohen Aktivitäten und gute Mundpflege mit relativ niedrigen Werten einhergehen, wird verständlich, wenn man berücksichtigt, daß die Hauptquelle dieses Enzyms die zelligen Speichelbestandteile darstellen. Diese haben in einer nicht regelmäßig gereinigten Mundhöhle viel bessere Möglichkeiten zur Ansammlung und Vermehrung als in einem gepflegten Mund.

Die Ansicht von BRAMSTEDT et al., die Aldolase-Aktivität ließe Schlüsse auf die Kariesgefährdung zu, kann nicht zugestimmt werden, da nach unseren Untersuchungen gerade in einer gepflegten Mundhöhle relativ geringe Aldolase-Aktivitäten zu finden sind. Es widerspricht auch der praktischen Erfahrung, daß gepflegte Mundhöhlen kariesgefährdeter sein sollen als ungepflegte, in denen relativ hohe Aldolase-Aktivitäten festgestellt wurden. Eine vermehrte Säureproduktion in den Plaques, die bei geringer Aldolase-Aktivität zu einer Anschoppung von Kohle-

hydraten und erhöhtem Substratangebot führen soll, hat auch EGGERS-LURA nicht nachweisen können. Er schreibt: "Man nimmt gewöhnlich an, daß die eingenommenen Zuckermengen, wenn sie in Beziehung zur Kariesaktivität gesetzt werden sollen, in die Zahnplaques hineindiffundieren müssen und sich dort der MILLERschen Theorie entsprechend benehmen und zwar so, wie es in den letzten Jahren von STEFAN und STRALFORS erklärt worden ist. Es ist aber eine Tatsache, daß weder die Theorie von STEFAN noch die von STRALFORS bis heute definitiv bewiesen ist. Die möglichen oder auch die aktuellen Konzentrationen des Zuckers in den Plaques sind nie von den MILLER-Anhängern gründlich untersucht worden" (17).

Wollte man unsere Beobachtungen über den Zusammenhang zwischen Mundpflege und Aldolase-Aktivität des Speichels in Einklang bringen mit der (von uns allerdings nicht bestätigt gefundenen) Beobachtung von BRAMSTEDT et al., daß "Kariesaktive" eine niedrige und "Kariesresistente" eine hohe Speichel-Aldolase-Aktivität aufweisen, so müßte man eine Beziehung zwischen der individuellen Mundpflege und der Kariesanfälligkeit nachweisen können. Ob eine solche Beziehung besteht, ist bis heute noch nicht endgültig geklärt. Es gibt Beobachtungen, die gegen eine derartige Beziehung sprechen. So konnten bei unseren Untersuchungen Probanden gesehen werden, die bei ausgesprochen mangelhafter Mundpflege ein völlig

karies- und füllungsfreies Gebiß aufwiesen.
Die Aldolase-Aktivität im Speichel ist offenbar von vielen Faktoren abhängig. Es konnten einige aufgezeigt werden, wobei nur ein geringer Teil der Beeinflussungsmöglichkeiten erfaßt wurde.

Es kann festgestellt werden: falls der Aldolase-Aktivität des Speichels überhaupt eine Rolle in der Karies-Pathogenese zukommt, drückt sich diese n i c h t durch signifikant unterschiedlich starke Aktivität im Speichel von KF. und KB.-Probanden aus!

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde Ruhe-Nüchtern-Speichel von 40 Kariesfreien (KF.) und von 40 Kariesbefallenen (KB.) mit dem Aldolase-Farb-Test untersucht. Es sollte geprüft werden, ob sich die Bestimmung der Speichel-Aldolase als klinischer Karies-Test eignet.
Die Werte der Aldolase-Aktivitäten im Ruhe-Nüchtern-Speichel kariesfreier und kariesbefallener Personen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.
Die Speichel-Aldolase-Aktivität unterliegt starken individuellen Schwankungen. Sie ist zu verschiedenen Tageszeiten unterschiedlich und auch an verschiedenen Tagen zu gleichen Tageszeiten verschieden.
Die gemessenen Werte weisen keinen Zusammenhang mit dem Kariesbefund der Untersuchungsperson auf.
Der Gesamt-Speichel von 36 Versuchspersonen wurde zentrifugiert und im Überstand und im Sediment die Aldolase-Aktivitäten getrennt und bestimmt. Es ergab sich ein Verhältnis von Gesamtspeichel zum Überstand wie 2:1. Ein deutlicher Anstieg der Aldolase-Aktivität ließ sich wowohl im Sediment als auch im Gesamt-Speichel durch Behandlung mit hypotoner Lösung erzielen.
Der menschliche Speichel enthält also f r e i e und z e l l g e b u n d e n e Aldolase.
Reiner Parotisspeichel weist nur geringe Aldolase-Aktivität auf.

Das Bezugssystem "Trockenmasse" ist dem Bezugssystem "ml" vorzuziehen, da ein direkter Zusammenhang zwischen dem Zellgehalt des Untersuchungsmaterials und der Aldolase-Aktivität besteht. Das geht aus der Beziehung der Aldolase-Aktivität des Speichels zur Mundpflege der Untersuchungsperson hervor: im Speichel aus einer ungepflegten Mundhöhle sind höhere Aktivitäten zu messen, als im Speichel aus einer gepflegten Mundhöhle. Anscheinend erhöhen auch Entzündungsvorgänge in der Mundhöhle die Aldolase-Aktivität.
Die Messung der Aldolase-Aktivität im Speichel eignet sich n i c h t als klinischer Karies-Test.

LITERATURVERZEICHNIS

1) BRAMSTEDT,F.
VONDERLINN,R.
"Die Sauerstoffaufnahme des Speichels und ihre Beziehungen zur Karies".
ZW 7, 505, (1952)

2) HARTLES,R.L.
MCDONALD,N.D.
"The Metabolism of the oral flora".
Biochem.J. 47, 60, (1950)

3) HATTYASY,D.
SZABO,T.
TOTH,K.
"Some physico-chemical properties of the carious and non carious saliva".
Arch. Oral Biol., Special Supplement, Vol. 6, 249 (1961)

4) KOTHE,I.
SCHÜTZMANNSKY,
"Untersuchungen über die Verläßlichkeit des Sauerstoffverbrauches im Speichel als Kariestest und seine Verwendbarkeit im Rahmen einer individuellen Kariesprophylaxe".
DZZ 14, 184, (1957)

5) WILLIAM,K.
"Der Sauerstoffverbrauch des menschlichen Speichels und seine Beziehung zur Karies".
Diss. Berlin 1964

6) HOERMANN,K.-C.
ROBINSON,W.E.
"On the determination of human saliva aldolase activity".
J.dent.Res. 36, 852, (1957)

7) AEBI,H.
RICHTERICH,R.
"Zur Biologie der Enzyme".
Helv.med.act. Vol. 30, 4-5, (1963)

8) NAUJOKS,R.
BRAMSTEDT,F.
RANKE,E.
KRÖNCKE,A.
"Beziehungen zwischen Aldolase-Aktivität des Speichels und der Karies".
Naturwiss. 47, 187, (1960)

9) NAUJOKS,R.
BRAMSTEDT,F.
RANKE,E.
KRÖNCKE,A.
"Beziehungen zwischen der Aldolase-Aktivität des Speichels und der Karies". Arch.Oral Biol. 4, 179, (1961)

10) BRAMSTEDT,F.
AHRENS,
"Zahn und Speichel". Arch. Oral Biol., Suppl. 135, Paris 1962

11) SWENANDER-LANKE,L.
"Individuelle Unterschiede der Zuckerelimination aus der Mundhöhle". ORCA, Verhandlungen der 6ten Tagung, 87 (1962)

12) BRAMSTEDT,F.
NAUJOKS,R.
BENEDIKT,J.
"Oral sugar clearance und Ferment-Aktivitäten im menschlichen Speichel". DZZ 18, 242, (1963)

13) BRAMSTEDT,F.
RANKE,E.
NAUJOKS,R.
"Experimentelle Beiträge zur Biochemie der Plaques und ihre Beziehungen zur Karies". Adv. in fluorine res. Vol. 2, 173 (1964)

14) EGGERS-LURA,H.
"Die Sauerstoffaufnahme der Speichelmikroflora und ihre Beziehungen zur Karies". DZMK 24, 177, (1956)

15) BRUNS,F.
"Bestimmung und Eigenschaft der Serum-Aldolase". Biochem.Z. 325, 156, (1954)

16) BURNETTI,
"Beitrag zum Studium des Aldolase-Gehaltes im Speichel und Serum bei Parodontopathien". Dent. Abstr. zitiert nach SILIBANI,C. und PRETOLANI,E. in: Riv. ital. stomat. 16, 1335, (1961)

17) EGGERS-LURA,H. "Neue Perspektiven und Richtlinien in der biochemischen Kariesforschung". DZZ 19, 133, (1964)

18) EGGERS-LURA,H. "Die Enzyme des Speichels und der Zähne". München 1949, Verlag Hanser

19) LEUTHARD,F. "Lehrbuch der physiologischen Chemie". Walter de Gruyter-Verlag 1963

20) BERGMEYER, "Methode der enzymatischen Analyse". Verlag Chemie - Weinheim 1962

21) DOERFEL,K. "Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen". Springer-Verlag 1965, 2. Aufl.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. E. H a r n d t meinen Dank für die Überlassung des Dissertationsthemas aus - drücken.

Besonders danke ich Herrn Dr. W a n d e l t für seine Hilfsbereitschaft und die Unterstützung,die er mir angedeihen ließ.

LEBENSLAUF

Am. 24. Oktober 1940 wurde ich als Sohn des Oberstudienrates Herbert Trümper und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Herrmann geboren. 1945 wurde unsere Familie nach Oberstaufen im Allgäu evakuiert. Dort absolvierte ich die ersten vier Grundschuljahre. 1950 kehrten wir nach Berlin zurück. Die 5. und 6. Klasse besuchte ich an der 11. Grundschule Lichtenrade. Danach wechselte ich auf die 5. OWZ.-Lichtenrade über und legte an dieser Lehranstalt im März 1959 die Reifeprüfung ab.

Am 10. Mai 1959 wurde ich an der Freien Universität Berlin für die Fakultät Medizin mit der Fachrichtung Zahnmedizin immatrikuliert. Am 12. August 1964 legte ich an der Freien Universität Berlin das Staatsexamen ab.

Seit Oktober 1964 bin ich je in Halbtagsstellung vormittags wissenschaftlicher Assistent am Institut für Kariesforschung Berlin und nachmittags Assistent in einer zahnärztlichen Praxis Berlins.